



# Distribution of transient receptor potential melastatin-8-containing nerve fibers in rat oral and craniofacial structures

著者	矢島 健大
号	44
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	歯博第759号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/00097038">http://hdl.handle.net/10097/00097038</a>

氏 名（本籍）： 矢 島 健 大

学 位 の 種 類： 博 士 （ 歯 学 ）

学 位 記 番 号： 歯 博 第 7 5 9 号

学位授与年月日： 平成 28 年 3 月 25 日

学位授与の要件： 学位規則第 4 条第 1 項該当

研究科・専攻： 東北大学大学院歯学研究科（博士課程）歯科学専攻

学位論文題目： Distribution of transient receptor potential melastatin-8-containing nerve fibers in rat oral and craniofacial structures （口腔領域では TRPM8 が侵害刺激受容および冷覚に関与する）

論文審査委員：（主査）教授 市 川 博 之  
教授 笹 野 泰 之 教授 齋 藤 正 寛

## 論文内容要旨

Transient receptor potential melastatin-8 (TRPM8) は冷刺激やメントール、イシリン等の化学物質により活性化する陽イオンのチャネルである。脊髄神経節や三叉神経節では小型ニューロンに存在し、冷覚や冷痛覚をもたらすことが知られている。本研究では、口腔顔面領域における TRPM8 の機能を明らかにするために、免疫組織学的手法により口腔及び頭蓋部における TRPM8 の分布を調べた。また、侵害情報の伝達や炎症に関連し、小型から中型の感覚ニューロンのマーカーとしても知られる calcitonin gene-related peptide (CGRP) の分布と比較検討した。

実験では、雄性7週齢 Wistar ラットを用いた。ザンボン固定液による灌流固定を行い、上顎骨、下顎骨、硬口蓋、口唇、耳下腺、顎下腺、咬筋、顎関節を取り出し、硬組織は脱灰処理を行った後、切片を作製した。ABC 法による免疫染色の結果、以下のことが明らかとなった。① TRPM8 陽性神経線維は歯肉、切歯乳頭、横口蓋ヒダ、口唇、歯根膜で認められた。唾液腺、咬筋、顎関節には存在しなかった。② CGRP 陽性神経線維はすべての組織で認められた。③ 歯肉では TRPM8 陽性神経線維は歯肉稜～外縁上皮で豊富であったが、歯肉溝内上皮や付着上皮では、ほとんど認められなかった。一方、CGRP 陽性神経線維は付着上皮に豊富に存在し、歯肉稜～外縁上皮では非常にまれであった。④切歯乳頭では TRPM8 及び CGRP 陽性神経線維はともに味蕾内に認められ、味蕾周囲の上皮内よりも豊富であった。また一部の味蕾細胞は TRPM8 陽性であった。さらに、蛍光二重免疫染色法や逆行性トレーサーである Fluorogold を用いた実験により以下のことが明らかとなった。① すべての末梢組織における神経線維で TRPM8 と CGRP の共存は認められなかった。② 歯肉を支配する三叉神経ニューロンのうち、 $2.6 \pm 2.1\%$  が TRPM8 陽性であり、 $40.4 \pm 7.2\%$  が CGRP を発現していた。③ 切歯乳頭では、 $13.6 \pm 3.5\%$  が TRPM8 を有し、 $38.4 \pm 4.4\%$  が CGRP を含んでいた。④歯肉或いは切歯乳頭を支配する TRPM8 陽性ニューロンは小型で、CGRP との共発現は認められなかった。

TRPM8 と CGRP の発現様式の比較から、三叉神経系において、TRPM8 は外受容器に発現し、CGRP は内受容器と外受容器の両方に発現することが示唆される。また歯肉における TRPM8 は神経原性の炎症との関連が希薄であるかもしれない。さらに、切歯乳頭の味蕾における TRPM8 の分布から、TRPM8 は口腔における化学物質に対して反応することも予想される。以上のことから、口腔領域に存在する TRPM8 は、冷刺激・冷痛刺激（約 25℃ 未満）や化学的な刺激により活性化され、飲食時の温度・化学的刺激の受容に重要な役割を担うことが示唆された。

## 審査結果要旨

Transient receptor potential metastatin-8 (TRPM8) は冷刺激やメンソール、イシリン等の化学物質により活性化する陽イオンのチャネルである。脊髄神経節や三叉神経節では小型ニューロンに存在し、冷覚や冷痛覚をもたらすことが知られている。本研究では、口腔顔面領域における TRPM8 の機能を明らかにするために、免疫組織学的手法により口腔及び頭蓋部における TRPM8 の分布を調べている。また、侵害情報の伝達や炎症に関連し、小型から中型の感覚ニューロンのマーカーとしても知られる calcitonin gene-related peptide (CGRP) の分布と比較検討している。

実験では、雄性 7 週齢 Wistar ラットを用いている。ザンボニ固定液による灌流固定を行い、上顎骨、下顎骨、硬口蓋、口唇、耳下腺、顎下腺、咬筋、顎関節を取り出し、硬組織は脱灰処理を行った後、切片を作製している。ABC 法による免疫染色の結果、以下のことが明らかとなっている。① TRPM8 陽性神経線維は歯肉、切歯乳頭、横口蓋ヒダ、口唇、歯根膜で認められる。唾液腺、咬筋、顎関節には存在しない。② CGRP 陽性神経線維はすべての組織で認められる。③ 歯肉では TRPM8 陽性神経線維は歯肉稜～外縁上皮で豊富であるが、歯肉溝内上皮や付着上皮では、ほとんど認められない。一方、CGRP 陽性神経線維は付着上皮に豊富に存在し、歯肉稜～外縁上皮では非常にまれである。④ 切歯乳頭では TRPM8 及び CGRP 陽性神経線維はともに味蕾内に認められ、味蕾周囲の上皮内よりも豊富である。また一部の味蕾細胞は TRPM8 陽性である。さらに、蛍光二重免疫染色法や逆行性トレーサーである Fluorogold を用いた実験により以下のことが明らかとなっている。① すべての末梢組織における神経線維で TRPM8 と CGRP の共存は認められない。② 歯肉を支配する三叉神経ニューロンのうち、 $2.6 \pm 2.1\%$  が TRPM8 陽性であり、 $40.4 \pm 7.2\%$  が CGRP を発現している。③ 切歯乳頭では、 $13.6 \pm 3.5\%$  が TRPM8 を有し、 $38.4 \pm 4.4\%$  が CGRP を含んでいる。④ 歯肉或いは切歯乳頭を支配する TRPM8 陽性ニューロンは小型で、CGRP との共発現は認められない。

TRPM8 と CGRP の発現様式の比較から、三叉神経系において、TRPM8 は外受容器に発現し、CGRP は内受容器と外受容器の両方に発現することが示唆される。また歯肉における TRPM8 は神経原性の炎症との関連が希薄であるかもしれない。さらに、切歯乳頭の味蕾における TRPM8 の分布から、TRPM8 は口腔における化学物質に対して反応することも予想される。以上のことから、口腔領域に存在する TRPM8 は、冷刺激・冷痛刺激（約 25℃ 未満）や化学的な刺激により活性化され、飲食時の温度・化学的刺激の受容に重要な役割を担うことが示唆される。

本論文は、三叉神経における痛覚及び冷覚伝達のメカニズムに関する理解を大きく前進させるものと評価でき、大きな意義があると判断される。よって本論文は博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。